Einfluss von drei Serumkonserven und vier Gammaglobulinen auf die Bakterizidie des Serums und des Blutes gegen Escherichia coli und Staphylococcus aureus

Heidi Kastner-Geier

1981

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 26 81 77

Aus der Kinderpoliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. H. Spiess

Einfluß von drei Serumkonserven und vier Gammaglobulinen auf die Bakterizidie des Serums und des Blutes gegen Escherichia coli und Staphylococcus aureus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians Universität zu München

vorgelegt von

Heidi Kastner-Geier

aus

München

1981

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der

Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. H. Spiess

Dekan: Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 16.7.1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Herrn Priv. Doz. Dr. med. C. E. von Pilar
möchte ich für die Überlassung des Themas
und für die großzügige Unterstützung und
wissenschaftliche Beratung danken.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546820_0077

INHALTSVERZEICHNIS

1 EINLEITUNG

2 MATERIAL UND METHODEN

3 ERGEBNISSE

3.1 Serumbakterizidie mit
3.1.1 Drei Serumkonserven
3.1.2 Vier Gammaglobulinen
3.2 Blutbakterizidie mit
3.2.1 Serumkonserven
3.2.2 Gammaglobulinen
3.3 Zusätzliche Untersuchungen
Komplement-, Immunglobulin-, Transferrin-, Eisengehalt, EBK, TEBK der Serumkonserven

4 DISKUSSION

4.1 Serumbakterizidie
4.1.1 Serumkonserven
4.1.2 Gammaglobuline
4.2 Blutbakterizidie
4.2.1 Bisherige Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit der Blutbakterizidie
4.2.2 Methode
4.2.3 Verhalten von S. aureus in reinen Serumkonserven und reinen Gammaglobulinen
4.2.4 Wirkung der Serumkonserven auf die Blutbakterizidie
4.2.5 Wirkung der Gammaglobuline auf die Blutbakterizidie

5 ZUSAMMENFASSUNG

1 EINLEITUNG

Der Einsatz von Humanserum und Gammaglobulinen hat in den letzten Jahren stark zugenommen (31; 33)

In der vorliegenden Arbeit wurden sieben dieser i.v. zu verabreichenden Präparate (3 Serumkonserven und 4 Gammaglobuline) getestet.

Studien über die immunologische Schutzwirkung der Serumkonserven liegen bis jetzt nicht vor, bei den Arbeiten über Gammaglobuline handelt es sich großteils um Vergleiche einzelner Präparate mit Standard-Gammaglobulin bzw. um Fallbeschreibungen. Da die Einflüsse anderer Behandlungsmethoden und spontane Verlaufsänderungen in die Bewertung mit einbezogen werden müssen, sind klinische Beobachtungen über die Schutzwirkung nur schwer zu objektivieren. Zuverlässige Parameter lassen sich auch nicht allein durch Titration spezifischer Antikörper gewinnen, da die Wirkung in vitro nicht immer mit der in vivo übereinstimmt (9; 18; 24; 34) und das Ergebnis der Titerbestimmung nicht mit der biologischen Funktion der Proteine korrelieren muß (32). Die wenigen kontrollierten klinischen Studien befassen sich mit einem einzelnen Präparat (11), ein eventueller Wirkungsunterschied der Gammaglobuline in vivo wurde noch nicht geprüft.

Unsere Absicht war, alle derzeit verfügbaren i.v.-Präparate zu vergleichen. Hierfür sollten in vitro-Tests eingesetzt werden, die den in vivo-Bedingungen möglichst nahe kommen:

1. Der Einfluß der Präparate auf die Bakterizidie des Frischserums
2. Der Einfluß der Präparate auf die Bakterizidie des Blutes, speziell der Granulozyten.

Für die in dieser Arbeit geprüften handelsüblichen Immunglobuline wurden verschiedene Herstellungsverfahren angewandt:

a) Spaltung durch Pepsin; das Fc-Fragment wird dadurch abgespalten. Es verbleiben hauptsächlich $F(ab')_2$-Stücke. 3-5% des IgG sind pepsinresistent (2). Das Präparat enthält IgA und IgM (5).
b) Spaltung durch Plasmin. Es entstehen monovalente Fab- und Fc-Fragmente. Die 3o-4o% plasminresistentes Gammaglobulin bestehen vor allem aus IgG2 und IgG4. Intaktes IgG1 ist in geringen Mengen, IgG3 kaum mehr nachzuweisen (3; 28).
c) ß-Propiolaktonbehandlung, um Aggregatbildung und damit unspezifische Komplementbindung zu blockieren. 9o% des so gewonnenen Präparates bestehen aus IgG-Monomeren. Außerdem ist IgA, IgM und eine auffallend hohe Konzentration von IgE enthalten (5; 39).
d) Angeblich nativ ist ein neueres Gammaglobulinpräparat. Es besteht zu 92% aus intakten IgG-Monomeren, zu 5,8% aus IgG-Dimeren (Angaben der Firma). Es handelt sich um das mit Alkohol und Polyaethylenglykol gefällte sowie mit Hydroxyaethylstärke behandeltes Präparat der Firma Schura.

Das säurebehandelte Präparat einer Schweizer Firma befand sich zu Beginn der Versuche noch nicht auf dem deutschen Markt.

Die Behandlung der Serumkonserven ist je nach Hersteller unterschiedlich, z.B. Diafiltration, Absorption an Aerosil, ß-Propiolaktonbehandlung, UV-Bestrahlung (ansonsten geheim).

Ihr Indikationsgebiet liegt vor allem im Bereich der Volumenersatztherapie und der Hypoproteinämien. Derzeit stellen sie, abgesehen von "fresh frozen plasma" und Vollblut die einzige Möglichkeit dar, IgM und IgA i.v. zu verabreichen.

Sie enthalten noch viele wesentliche Serumeiweiße, die z. T. noch biologisch intakt sind (32). Über die biologische Funktion speziell des IgG, IgA, IgM und des Transferrins gibt es kaum Informationen.

Aufgrund der klinischen Bedeutung der Präparate schien es sinnvoll zu prüfen, inwieweit sie die antibakteriellen Eigenschaften des Blutes beeinflussen.

Es wurde die Serumbakterizidie gegen E. coli und die Blutbakterizidie gegen S. aureus untersucht, zwei Spitalkeime, die vor allem für Säuglinge gefährlich sind.

2 MATERIAL UND METHODEN

Keime:

Als Testkeime kamen E. coli und S. aureus aus klinischem Untersuchungsmaterial zur Anwendung. E. coli hatte sich in Vorversuchen als serumsensibel erwiesen, während der verwendete S. aureus wie alle grampositiven Kokken serumresistent war. E. coli wurde auf Endoagar, S. aureus auf Blutagar gezüchtet. Die Kulturen wurden 2x pro Woche erneuert. Die Lagerung erfolgte bei Zimmertemperatur. Für die Versuche wurden Kulturen in Standard-II-Bouillon-Merck angesetzt und ca. 16 Stunden bei 37°C inkubiert. Daraus wurde mit Hilfe der Neubauer-Zählkammer eine Ausgangssuspension mit einer Konzentration von $1o^5$ Keimen/ml hergestellt. Die notwendigen Verdünnungen erfolgten mit physiologischer Kochsalzlösung.

Präparate:

Serumkonserven:
Von jedem Präparat kamen mindestens 2 Chargen zur Anwendung, die von der Klinikapotheke bezogen wurden.

	Chargennr.:	Hersteller:
Biseko	211o38	Biotest
	2o1o18	
	2o1o58	
	219o78	
	22oo78	
	224o79	
	229o99	
Schura	5o1o6	Schura
	5o1o5	Blutderivate
	5o115	
	5o1o1	
	5o117	
	5o128	
Seretin	446o7o	Behringwerke
	446oo8	
	446o59	

Die geöffneten Serumkonserven wurden steril und unter Luftabschluß bei 4-8°C aufbewahrt. Die Lagerungsdauer in geöffnetem Zustand überschritt nicht eine Woche und wurde festgehalten, um sich eventuell daraus ergebende Einflüsse auf die Wirksamkeit berücksichtigen zu können.

Immunglobuline:
Auch hier war das Ziel, in jeder Versuchsanordnung zwei Chargen zu testen.

	Chargennr.:	Hersteller:
Gammavenin	42oo68 42o1o1	Behringwerke
Schura-Immunglobulin	8o133 8o131 8o136	Schura Blutderivate
Rhodioglobin	N 1119 A P o152 D	Rhodia Pharma
Intraglobin	4o2o28 411o18 4o3o58 411o49	Biotest

Die Präparate, die mit Ausnahme von Intraglobin lyophilisiert vorlagen, wurden nach Gebrauchsanweisung zubereitet und steril bei 4-8°C aufbewahrt. Sie wurden nach spätestens 4 Tagen verworfen. Die Lösungen wurden von 5 g/1oo ml auf 1 g/1oo ml verdünnt, so daß der Gammaglobulingehalt in etwa dem der Serumkonserven entsprach.

Frischserum:
Das Serum wurde von gesunden männlichen und weiblichen Spendern für jeden Versuch frisch gewonnen. Da in jeder Versuchsreihe gleichzeitig alle Präparate mit zwei Chargen vertreten waren, erübrigte sich das Anlegen eines Spenderpools.
Peripheres Venenblut wurde in sterilen Glasgefäßen zur Gerinnung gebracht und anschließend 2x1o min bei 3ooo U/min zentrifugiert. Beim Abheben des Überstands wurde darauf geachtet, ein Ansaugen des Leukozytensaums zu vermeiden.

Leukozyten:

Das frisch gewonnene Blut wurde mit 5 IE Heparin/ml versetzt, in sterile, silikonisierte Röhrchen gefüllt und 1o min bei 3ooo U/min zentrifugiert. Das überstehende Plasma wurde abgehoben und verworfen. Die verbleibenden Blutbestandteile wurden 2x mit der vierfachen Menge Hankscher Lösung, versetzt mit 5 IE Heparin/ml, gewaschen um Plasmareste zu entfernen. Von jedem Probanden wurde ein Differentialblutbild angefertigt, um Zahl und Verhältnis von Granulozyten und Monozyten zu Lymphozyten bei der Bewertung der Versuchsergebnisse berücksichtigen zu können.

Versuchsreihe Serumbakterizidie:

Es wurden folgende Systeme getestet:

Serumkonserven: Reine Serumkonserven:
Kontrolle auf bakteriostatische Wirkung

Reines Frischserum:
Kontrolle auf optimale Bakterizidie

1o% Frischserum + 9o% NaCl o,9%

1o% Frischserum + 9o% Serumkonserve

2,5% Frischserum + 97,5% NaCl o,9%

2,5% Frischserum + 97,5% Serumkonserve

Immunglobuline: Immunglobuline 1g/1ooml

Reines Frischserum

1% Frischserum + 99% NaCl o,9%

1% Frischserum + 99% Immunglobuline

Zu diesen Ansätzen wurden die oben beschriebenen Keimsuspensionen gegeben, so daß die Keimkonzentration $1o^4$ Keime/ml Testansatz betrug. Die Arbeiten erfolgten in sterilen Eppendorf-Gefäßen und Glasröhrchen, jeweils doppelte Ansätze und mindestens 2 Chargen pro Präparat.

Nebenversuche:

a) Erhöhte Keimbelastung (Faktor 5oo):
   1o% Frischserum + 9o% NaCl o,9%
   1o% Frischserum + 9o% Serumkonserve
   Zugabe der Keime, die Endkonzentration im Testsystem betrug $5x1o^6$/ml.

b) Vorinkubation von E. coli in Serumkonserve bzw. Gammaglobulin:
   1o min Inkubation der Keime in Testlösung
   2maliges Waschen der Keime
   Resuspendieren in NaCl o,9%
   Zugabe von Frischserum in einem Verhältnis von
   2,5% Frischserum + 97,5% NaCl bei Serumkonserven
   1% Frischserum + 99% NaCl bei Intraglobin, d. h. vorinkubierte, gewaschene Keime wurden zu Frischserum + NaCl o,9% gegeben, um Hemmstoffe o. ä. in den Präparaten zu umgehen.

Versuchsreihe Blutbakterizidie:

Es wurden folgende Systeme geprüft:

1. Versuch mit Komplement:
   450 µl Testlösung (Serumkonserve, Gammaglobuline, NaCl)
   Keimzugabe
   10 min Inkubation im Schüttelbad, 37°C
   Zugabe von 50 µl Frischserum
   (= 10% Frischserum + 90% Testlösung)
   5 min Inkubation

2. Versuch ohne Komplement:
   500 µl Testlösung
   Keimzugabe
   15 min Inkubation im Schüttelbad, 37°C

Abkühlen auf 22°C
Zentrifugieren bei 3000 U/min
2x Waschen mit NaCl 0,9%
Resuspendieren in NaCl 0,9%
Überprüfen der Keimkonzentration
Zugabe der Keime zu
a) gewaschenem Blut mit einem künstlich hergestellten Hk von 50, 1 Keim/100 Granulozyten
b) NaCl, um die Wirkung der Inkubation auf die Zahl der Koloniebildner festzustellen.

Die Arbeiten erfolgten in Eppendorf-Gefäßen und silikonisierten Glasröhrchen.

Nährboden für Gußplatten:

Es wurde flüssiger hypotoner Müller-Hinton-Agar von maximal 5o°C verwendet.

Durchführung und Auswertung:

Sofort nach Zugabe der Keime wurde gemischt und Agarplatten gegossen, um die Ausgangskeimzahl festzulegen. Um das weitere Verhalten der Keime zu prüfen, wurden nach 3o, 6o, 12o, 18o, 24o min erneut Gußplatten hergestellt. Die Testmischungen wurden in der Zwischenzeit bei 37°C im Schüttelbad aufbewahrt. Um die biologischen Schwankungen der Methode auszugleichen, wurden je Versuchsansatz und Meßzeitpunkt drei Platten gegossen. Es wurde darauf geachtet, daß die Koloniezahl pro Platte in einem der Zählgenauigkeit entsprechendem Bereich (3o-3oo Kolonien/Platte) lag. Die Auszählung erfolgte nach 24 Stunden Bebrütung bei 37°C.

Zusatzuntersuchungen:

Die Messung des unspezifischen Komplementverbrauchs bei Mischung von Serumkonserve bzw. Gammaglobulin mit Frischserum bzw. Meerschweinchenstandard erfolgte mit Quantiplate K-Platten, Kallestad-Biotest. Als Ausgangswert diente der Komplementgehalt einer Mischung aus Frischserum bzw. Meerschweinchenstandard 1oo HE und NaCl o,9%. Abweichungen von diesem Wert werden in Prozent wiedergegeben.
Der Gehalt der Serumkonserven an IgG, IgM, IgA und Transferrin wurde mit Hilfe von Immundiffusionsplatten bestimmt.
Zusätzlich wurde der Eisengehalt, die EBK und die TEBK der Serumkonserven mit laborüblichen Methoden bestimmt.

3 ERGEBNISSE

Die Kurven zeigen den Verlauf der Keimkonzentration in Prozent des Ausgangswertes bei t=o (Abszisse: Zeit, Ordinate: Koloniezahl in %). Alle Werte sind Mittelwerte von Mehrfachbestimmungen (≧ 4 Versuche). Eine Abhängigkeit von der Lagerungsdauer der Konserven in geöffnetem Zustand konnte nicht festgesellt werden.

3.1 Serumbakterizidie:

3.1.1 Serumkonserven:

3.1.1.1 Verhalten von E. coli in reinen Serumkonserven:

Bei der Prüfung des Wachstums von E. coli in reinen Serumkonserven ergab sich bis 9o min annähernd Bakteriostase, dann ein leichter Anstieg der Koloniezahl bis 18o min. Bis zu diesem Zeitpunkt zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Präparaten. Während bei der Serumkonserve Schura diese leicht ansteigende Tendenz bis 24o min anhielt und bei Seretin ein leichter Abfall eintrat, vermehrten sich die Keime in Biseko zwischen 18o und 24o min auf das ca. 17fache des Ausgangswertes. Siehe Abbildung 1.

3.1.1.2 Verhalten von E. coli in einer Mischung aus 1o% Frischserum und 9o% Serumkonserve:

Sowohl das reine Frischserum wie auch die Mischung von physiologischer Kochsalzlösung und Frischserum hatten nach 6o min alle Keime abgetötet. Auch nach Beschicken der Gußplatten mit der 1o-2ofachen Menge an Testmischung konnte auch nach 24 Stunden keine Koloniebildung mehr festgestellt werden.
In keinem Fall verbesserten die Präparate die Wirkung des Frischserums, in zwei Fällen trat eine deutliche Verschlechterung ein (Schura, Seretin), die bei Biseko weniger ausgeprägt war. Siehe Abb. 2.

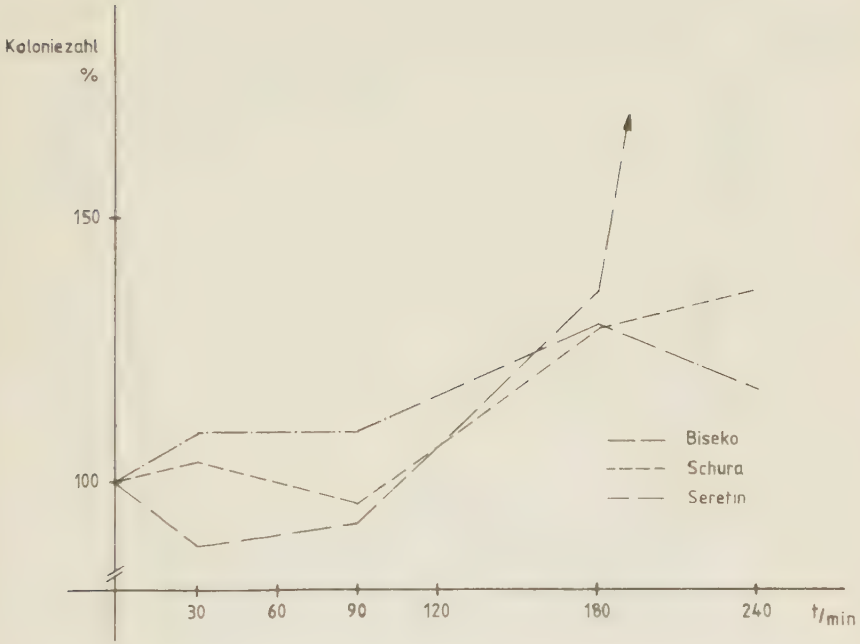

Abb. 1: E. coli in reinen Serumkonserven

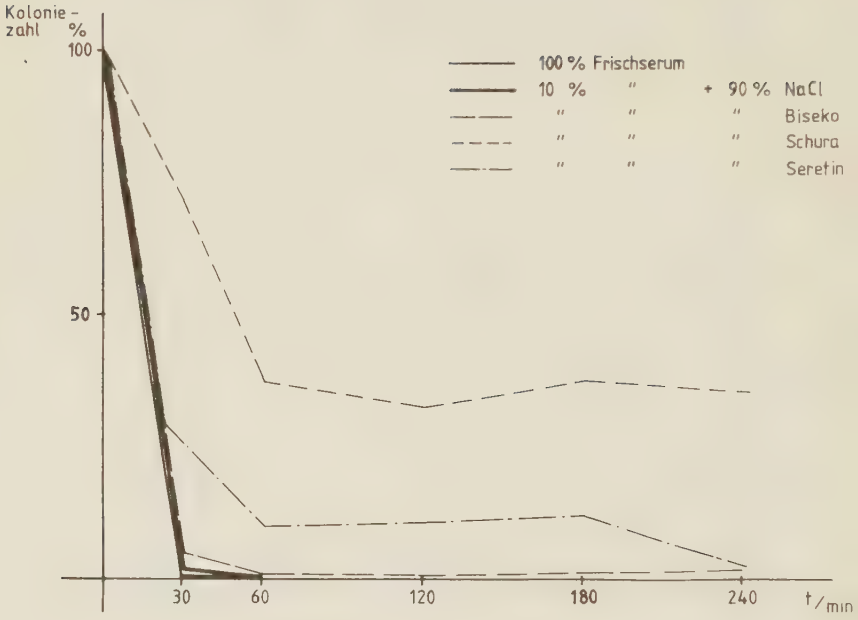

Abb. 2: E. coli in einer Mischung aus 10% Frischserum und 90% Serumkonserve

3.1.1.3 Verhalten von E. coli in einer Mischung aus 10% Frischserum und 90% Serumkonserve bei 500facher Keimbelastung:

Der Kurvenverlauf unterscheidet sich trotz der 500fachen Keimbelastung nicht eindeutig von den Kurven des Versuches 3.1.1.2. Die Rangordnung der Präparate bleibt erhalten. Siehe Abbildung 3.

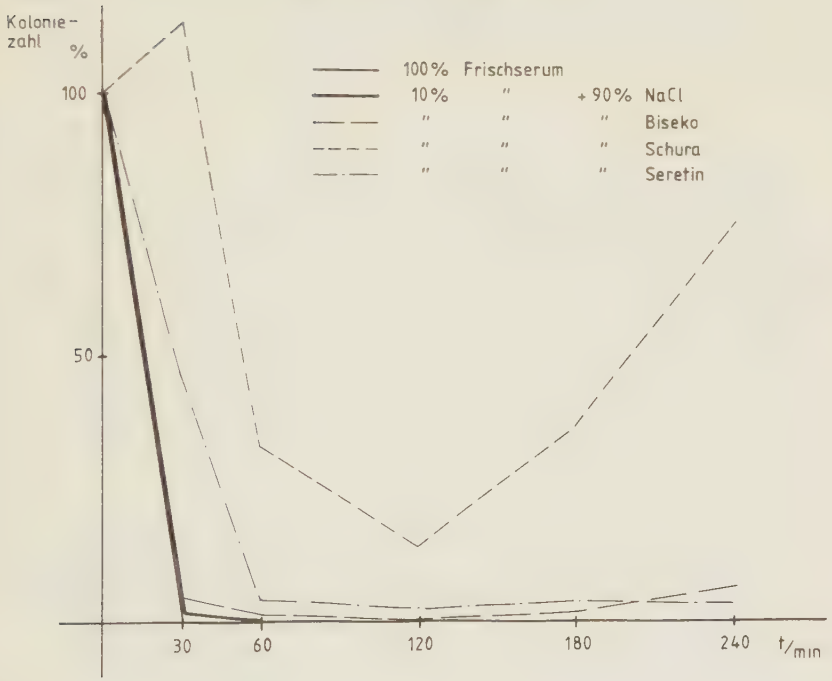

Abb. 3. E.coli in einer Mischung aus 10% Frischserum und 90% Serumkonserve bei 500facher Keimbelastung

3.1.1.4 Verhalten von E. coli in einer Mischung aus 2,5% Frischserum und 97,5% Serumkonserve:

Das reine Frischserum hatte nach 6o min alle Keime abgetötet. Bei der Mischung von 2,5% Frischserum und 97,5% NaCl o,9% war dies nach 12o min der Fall. Diese hohe Frischserumleistung wurde durch Ersetzen des NaCl durch die Testpräparate in keinem Fall übertroffen. Ein Präparat (Biseko) verschlechterte die Wirkung der Frischserum-NaCl-Mischung gering, die übrigen Mischungen wirkten im Gegensatz zu den reinen Präparaten wuchsfördernd. Siehe Abbildung 4.

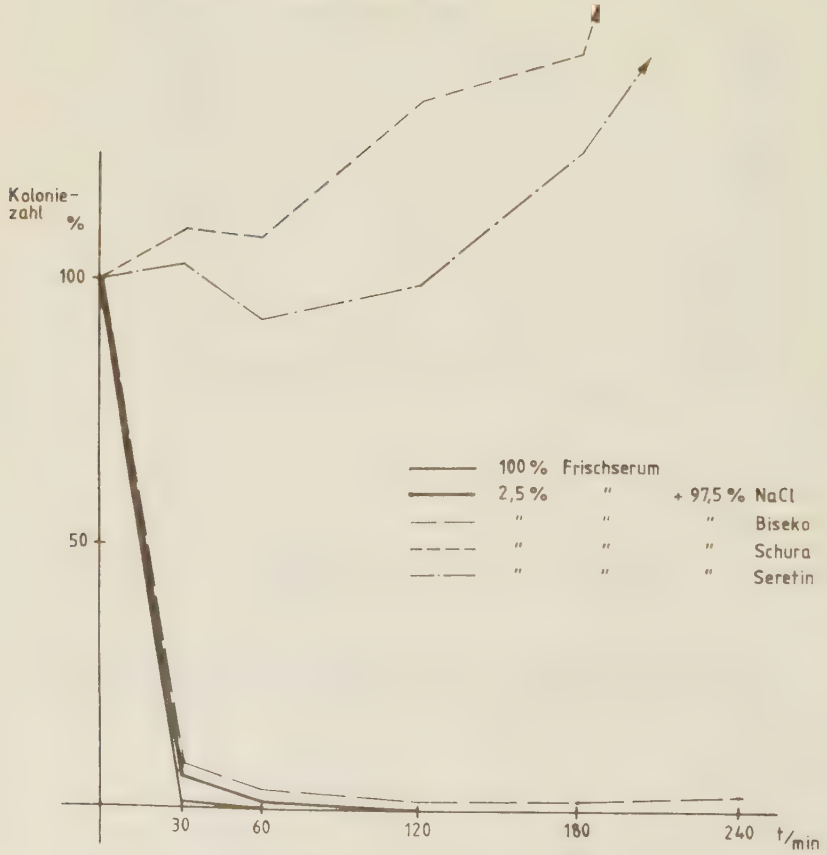

Abb. 4: E.coli in einer Mischung aus 2,5% Frischserum und 97,5% Serumkonserve

3.1.1.5 Verhalten von E. coli in einer Mischung aus 2,5% Frischserum und 97,5% NaCl o,9% nach Vorinkubation der Keime in Biseko und Schura, Keime gewaschen:

Nach Entfernen der nicht an die Keime gebundenen Antikörper aus dem Testsystem fällt das Ergebnis für die geprüften Serumkonserven besser aus. Eine Steigerung der Frischserumleistung konnte zwar nicht beobachtet werden, da die Frischserumwirkung zu stark und zu schnell war. Immerhin hat die Serumkonserve Schura unter diesen Bedingungen die Bakterizidie des Frischserums nicht mehr aufgehoben.

Zeit (min)	0	15	30	60	120
Keime vorinkubiert in	Keimkonzentr. in % des Ausgangswertes				
NaCl	100	0	0	0	0
Biseko	100	0	0	0	0
Schura	100	0	0	0	0

Tab. 1: E. coli in einer Mischung aus 2,5% Frischserum + 97,5% NaCl nach Vorinkubation in Biseko und Schura, Keime gewaschen

3.1.2 Gammaglobuline:

3.1.2.1 Verhalten von E. coli in reinen Gammaglobulinen:

Die teilweise große Streubreite der Versuche läßt eine genaue Einordnung der Präparate nicht zu. In den ersten 12o min bewirkten die Gammaglobuline Bakteriostase, dann folgte eine starke Vermehrung der Koloniebilder, die beim plasmin- und propiolakton-behandelten Präparat besonders ausgeprägt war. Siehe Abbildung 5.
Eine Agglutination der Keime konnte mikroskopisch ausgeschlossen werden.

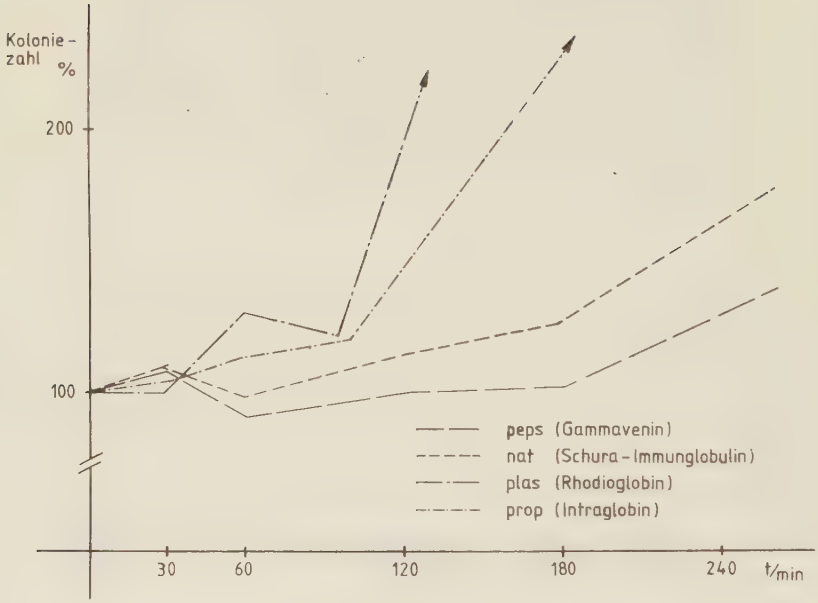

Abb. 5: E. coli in reinen Gammaglobulinen

3.1.2.2 Verhalten von E. coli in einer Mischung aus 1% Frischserum und 99% Gammaglobulin:

Das auf 1% verdünnte Frischserum ermöglichte initial eine starke Keimabnahme, ab 60 min setzte eine Keimvermehrung ein , die ab 180 min steil anstieg und den Ausgangswert überschritt. Dieser initiale Abfall und spätere Wiederanstieg war, verschieden stark ausgeprägt, auch bei den 4 Testpräparaten festzustellen. Die besten Werte erreichte das plasminbehandelte Präparat. Die geringste Keimabnahme trat beim pepsinbehandelten Gammaglobulin auf. Alle Präparate verschlechterten die Bakterizidie, keines hob sie jedoch vollständig auf. Siehe Abb. 6.

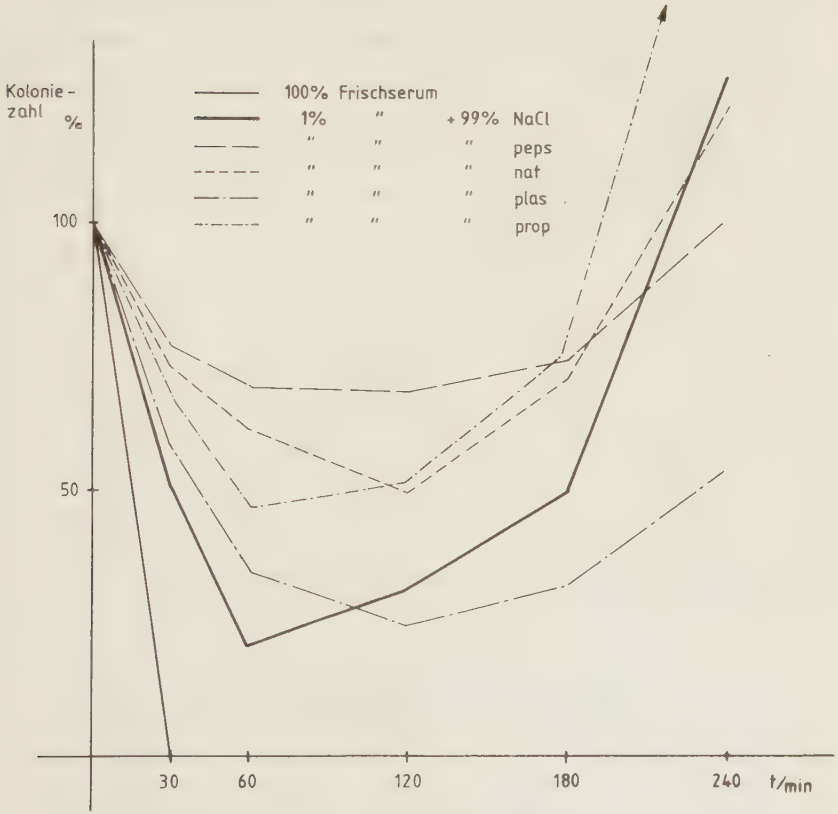

Abb. 6: E.coli in 1% Frischserum + 99% Gammaglobuline

3.1.2.3 Verhalten von E. coli in einer Mischung aus 1% Frischserum und 99% NaCl o,9% nach Vorinkubation der Keime in Intraglobin, Keime gewaschen:

Die in NaCl o,9% vorinkubierten Keime wurden nach Frischserumzugabe innerhalb von 6o min abgetötet. Setzte man an Stelle von NaCl Intraglobin ein, wurden die Keime in Frischserum + NaCl nicht vollständig abgetötet, d. h. die Antikörper aus dem Präparat behindern das native lytische System.

Zeit (min)	0	15	30	60	120
Keime vorinkubiert in	Keimkonzentr. in % des Ausgangswertes				
NaCl	100	0,1	0	0	0
Intraglobin	100	2,1	1,8	1,1	2,4

Tab. 2: E. coli in einer Mischung aus 1% Frischserum + 99% NaCl nach Vorinkubation in Intraglobin

3.2 Blutbakterizidie:

3.2.1 Serumkonserven:

3.2.1.1 Verhalten von S. aureus in reinen Serumkonserven und in Frischserum:

Ebenso wie in Frischserum vermehrt sich S. aureus in den Serumkonserven. Der Anstieg der Koloniezahl ist in den Serumkonserven weniger steil als im Frischserum. Siehe Abbildung 7.

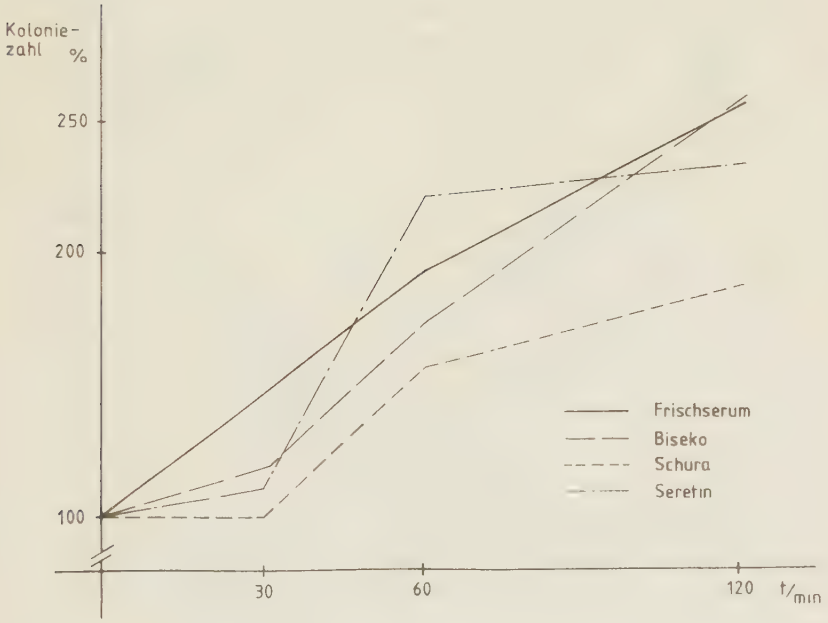

Abb. 7: S. aureus in reinen Serumkonserven und in Frischserum

3.2.1.2 Wirkung der Serumkonserven auf die Blutbakterizidie, S. aureus opsonisiert in 9o% Serumkonserve + 1o% Frischserum:

Die Vorinkubation der Keime in Serumkonserve + Frischserum förderte mit einer Ausnahme die Blutbakterizidie nicht stärker als die Vorinkubation in NaCl o,9% + Frischserum. Das Präparat der Firma Schura erreichte die Leistung von reinem Frischserum. Siehe Abbildung 8.

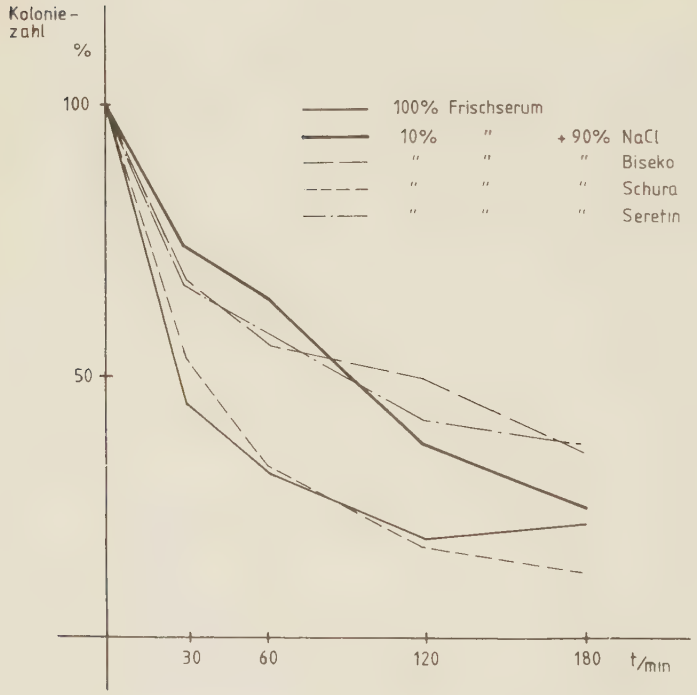

Abb. 8: Wirkung der Serumkonserven auf die Blutbakterizidie, S. aureus opsonisiert in 90% Serumkonserve + 10% Frischserum

3.2.1.3 Wirkung der Serumkonserven auf die Blutbakterizidie, S. aureus opsonisiert in reinen Serumkonserven:

Die Opsonisierung der Keime in Serumkonserven ergab keine Verbesserung der Leukozytenleistung. Nach Inkubation mit Seretin trat zeitweilig eine deutliche Verschlechterung der bakteriziden Eigenschaften des Blutes ein, der Endpunkt war für alle Präparate annähernd gleich. Allerdings war die Leistung der Granulozyten alleine fast so gut wie die des Serums + Granulozyten. Siehe Abbildung 9.

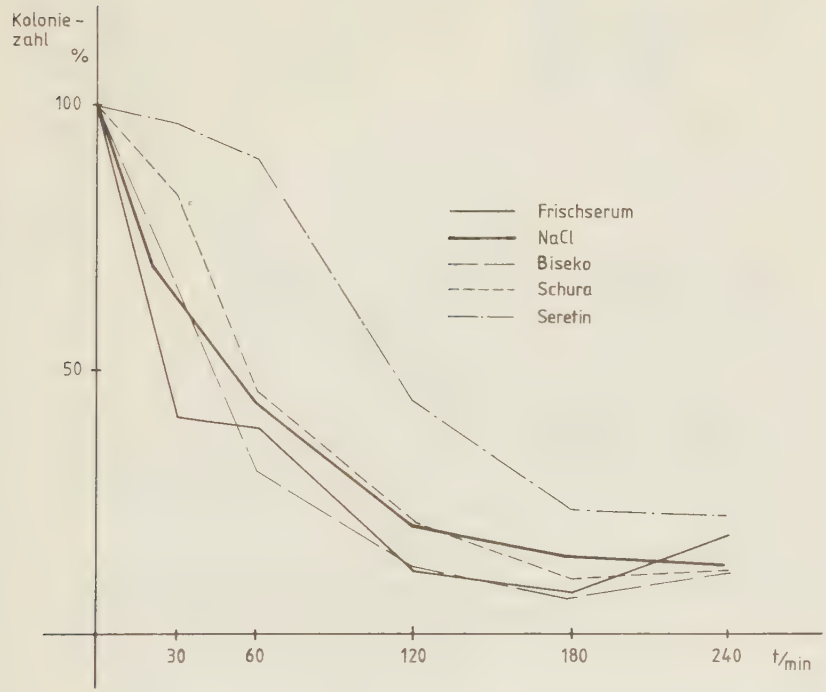

Abb. 9: Wirkung der Serumkonserven auf die Blutbakterizidie, S. aureus opsoniert in reinen Serumkonserven

3.2.2 Gammaglobuline:

3.2.2.1 Verhalten von S. aureus in reinen Gammaglobulinen:

Die Präparate wirkten bis zu einer Inkubationsdauer von 12o min bakteriostatisch. Mit Ausnahme des plasminverdauten Gammaglobulins ließ sich diese Eigenschaft auch noch nach 18o min nachweisen. Siehe Abbildung 1o.

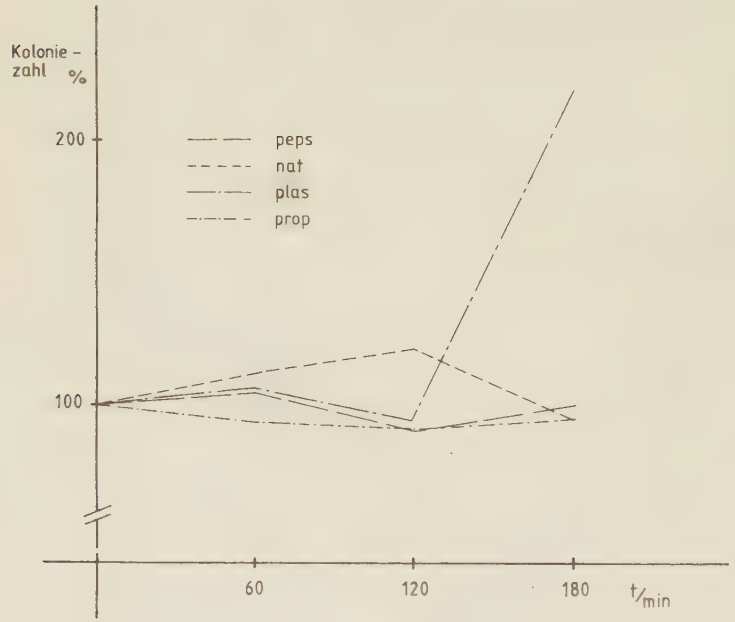

Abb. 10: S. aureus in reinen Gammaglobulinen

3.2.2.2 Wirkung der Gammaglobuline auf die Blutbakterizidie, S. aureus opsonisiert in 9o% Gammaglobulin + 1o% Frischserum:

Eine signifikante Wirkung der Präparate konnte nicht festgestellt werden. Die Leukozytenleistung wurde nicht verbessert. Siehe Abbildung 11.

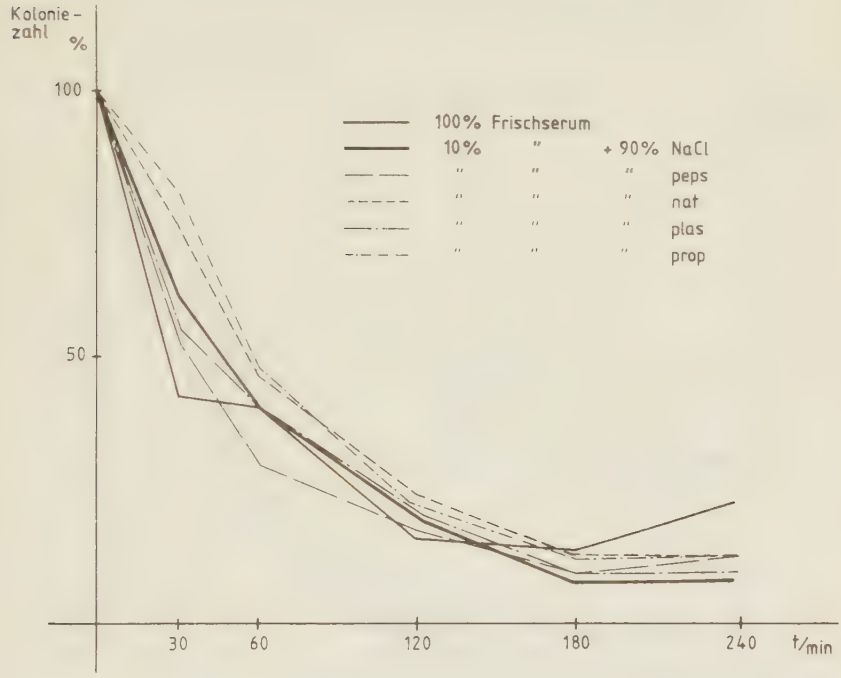

Abb. 11: Wirkung der Gammaglobuline auf die Blutbakterizidie, S. aureus opsonisiert in 90% Gammaglobulin + 10% Frischserum

3.2.2.3 Wirkung der Inkubation von S. aureus in 90% Gammaglobulin + 10% Frischserum, nicht gebundene Antikörper entfernt:

Um die Wirkung der Inkubation von der Leukozytenleistung abzugrenzen, wurden die Keime in NaCl o,9% suspendiert und ihr Verhalten beobachtet. Es zeigte sich Bakteriostase durch die Gammaglobuline. Siehe Abbildung 12.

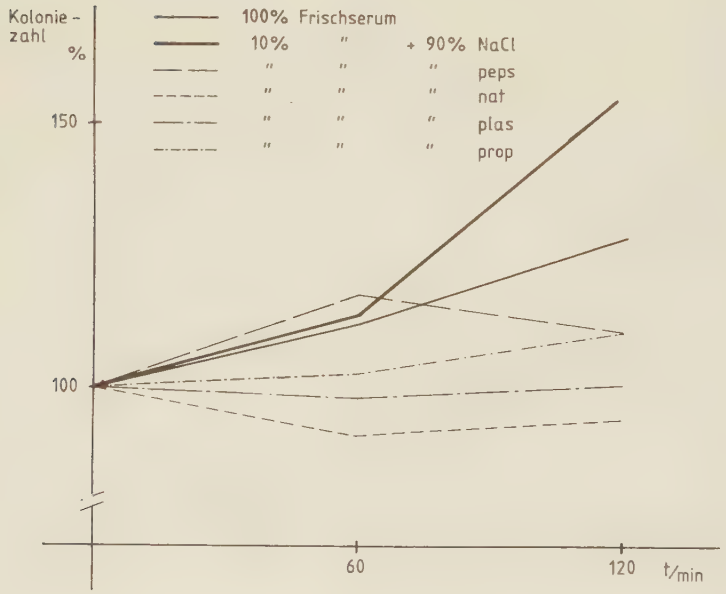

Abb. 12: Wirkung der Inkubation in 90% Gammaglobulin + 10% Frischserum auf S. aureus

3.2.2.4 Wirkung der Gammaglobuline auf die Blutbakterizidie, S. aureus opsonisiert in reinen Gammaglobulinen, nicht gebundene Antikörper entfernt:

Die Geschwindigkeit der Keimreduktion wurde durch kein Präparat gesteigert. Initial wurde durch Opsonisierung in Frischerum die beste Wirkung erzielt. Der steile Wiederanstieg auf nahezu 5o% des Ausgangswertes, der nach Opsonisierung in Frischserum auftrat, blieb bei 3 Immunglobulinen aus. Siehe Abbildung 13.

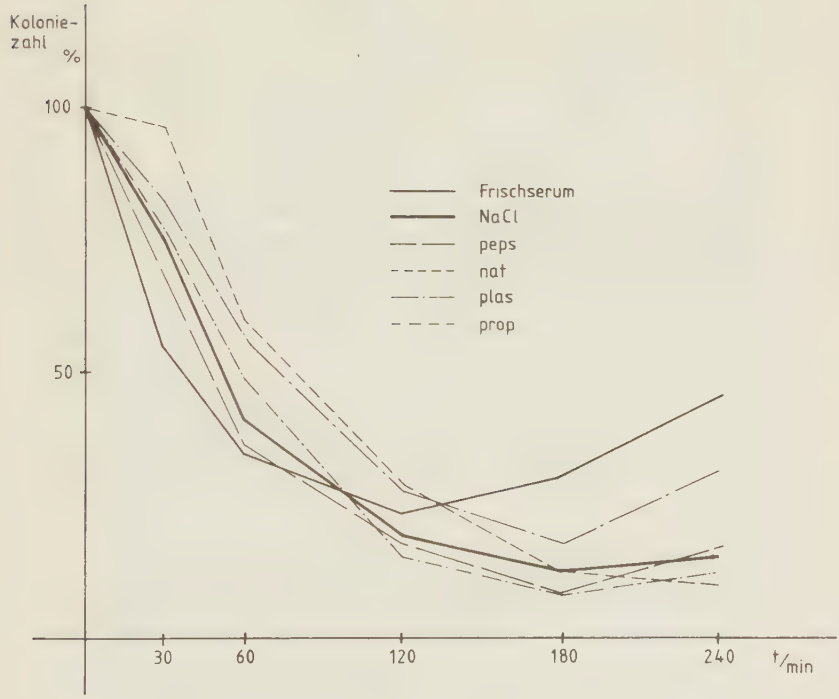

Abb. 13: Wirkung der Gammaglobuline auf die Blutbakterizidie, S aureus opsonisiert in reinen Gammaglobulinen

3.2.2.5 Wirkung der Inkubation von S. aureus in reinen Gammaglobulinen, nicht gebundene Antikörper entfernt:

Inkubation und anschließendes Resuspendieren der Keime in NaCl o,9% hatte Bakteriostase zur Folge, so daß die in 3.2.2.4 gemessene Keimreduktion alleinige Leukozytenleistung ist.
Siehe Abbildung 14.

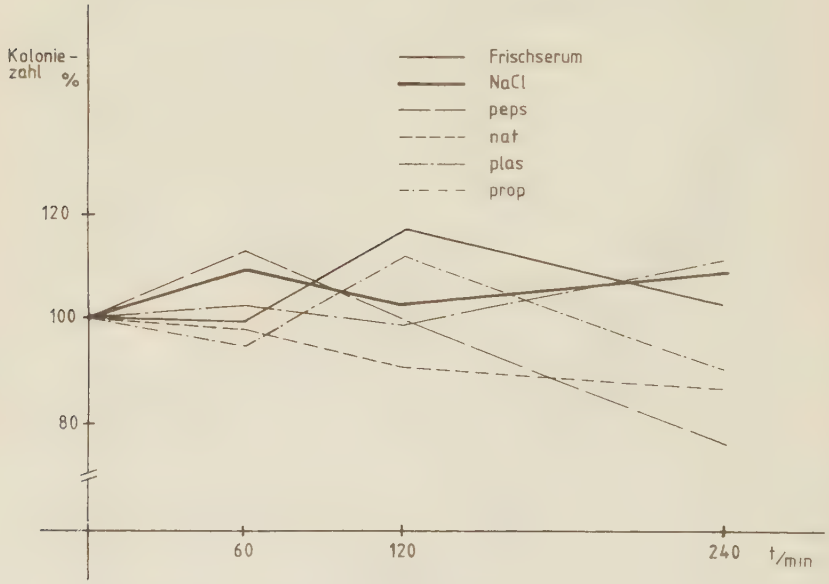

Abb. 14: Wirkung der Inkubation in Gammaglobulinen auf S. aureus

3.3 Zusatzuntersuchengen:

Unspezifischer Komplementverbrauch der Serumkonserven bei 1:1-Mischung mit Frischserum bzw. Meerschweinchen Standard 1oo HE.

Serum-konserve	Komplementaktivität in % des Ausgangswertes	Unspezifischer Komplement-verbrauch in %
Biseko	100	0
Schura	80	20
Seretin	86	14

Tab. 3: Mischung mit Frischserum, human

Serum-konserve	Komplementaktivität in % des Ausgangswertes	Unspezifischer Komplement-verbrauch in %
Biseko	100	0
Schura	73	27
Seretin	64	36

Tab. 4: Mischung mit Meerschweinchenstandard

Bei 2 Präparaten (Schura und Seretin) zeigte sich antikomplementäre Wirkung, die bei Mischung mit Meerschweinchen-Standard stärker ausgeprägt war als bei Mischung mit Frischserum.

Immunglobulingehalt der Serumkonserven (Werte in Klammern sind Herstellerangaben):

Serum-konserve \ Immunglobulin mg/100ml	IgG	IgM	IgA	
Biseko	1160 (820)	80 (75)	193 (185)	Gesamteiweiß nach Angaben der Firmen: 5 g/100 ml
Schura	1974 (2000)	235 (300)	350 (400)	
Seretin	962 (890)	74 (62)	159 (167)	

Tab. 5: Immunglobulingehalt der Serumkonserven

Die von uns gemessenen Immunglobulinkonzentrationen stimmen in etwa mit den Angaben der Firmen überein. Der IgG-Gehalt betrug bei Biseko 1160 mg/100ml, bei Schura 1974 mg/100ml, bei Seretin 962 mg/100ml. IgM waren enthalten in Biseko 80 mg/100ml, in Schura 235 mg/100ml, in Seretin 74 mg/100ml. Der IgA-Gehalt betrug bei Biseko 193 mg/100ml, bei Schura 350 mg/100ml, bei Seretin 159 mg/100ml. Auffallend ist der hohe Immunglobulingehalt der Serumkonserve Schura.

Transferrin-, Eisengehalt, Eisenbindungskapazität und totale Eisenbindungskapazität der Serumkonserven:

Serumkonserve	Fe µg/100 ml	EBK µg/100 ml	TEBK µg/100 ml	Transferrin mg/100 ml
Biseko	146	64	210	220 (195)
Schura	350	215	565	514
Seretin	20	167	187	180 (241)

Tab. 6: EKB, TEBK, Fe- und Transferringehalt der Serumkonserven

Aus obenstehender Tabelle sind EBK, TEBK, Eisen- und Transferringehalt der Serumkonserven zu ersehen. Auffallend ist die niedrige Eisenbindungskapazität von Biseko, die hohe TEBK und das hohe Transferrin von Schura.

4 DISKUSSION:

4.1 Serumbakterizidie:

4.1.1 Serumkonserven:

4.1.1.1 Verhalten von E. coli in reinem Frischserum:

Der verwendete E. coli-Stamm hielt sich gut in physiologischer Kochsalzlösung.
Gegenüber Frischserum wies er eine starke Empfindlichkeit auf: Nach 6o min Inkubation wuchs keine Kolonie mehr an. Auch nach 24 Stunden blieben die Seren steril, im zentrifugierten Sediment fanden sich keine agglutinierten Keime: Die beobachtete Keimreduktion beruhte also auf Abtötung, nicht auf Agglutination der Koloniebildner.

4.1.1.2 Verhalten von E. coli in Mischungen mit verschieden hohem Frischserumanteil:

Eine Verdünnung des Frischserums auf 2o% brachte keine Abnahme der Bakterizidie: Bei Zugabe von 8o% Serumkonserven blieb die Frischserumleistung erhalten (Kurven nicht dokumentiert). Eine Reduzierung des Frischserums auf 1o% verschlechterte das Ergebnis bei Mischung mit NaCl o,9% geringfügig, bei Mischung mit Serumkonserven in verschieden starkem Ausmaß (Abb. 2).
Eine Verringerung des Frischserumgehalts auf 2,5% verdeutlichte diese Tendenz: Während bei 1o% Frischserumgehalt alle Präparate eine starke initiale Keimreduktion zuließen, war dies bei 2,5% Frischserum nur noch bei einem Präparat (Biseko) der Fall. Die übrigen Serumkonserven zeigten nach anfänglicher Bakteriostase starke Keimvermehrung (Abb. 4). Hier dienten eventuell die nach Verbrauch der antibakteriell wirksamen Serumbestandteile verbliebenen Proteine als Wuchsstoffe.

Es gilt als erwiesen, daß bei ausreichendem Nährstoffangebot selbst serumsensible Stämme von E. coli nach einer gewissen Latenzzeit wieder in die logarithmische Vermehrungsphase übergehen, wenn sie subletal geschädigt waren (16, 17).

4.1.1.3 Verhalten von E. coli in reinen Serumkonserven:

In reinen Serumkonserven zeigte sich bei allen Präparaten anfänglich Bakteriostase, bei zwei Seren folgte ein leichter Anstieg der Koloniezahl. Biseko ermöglichte nach 9o min eine massive Keimvermehrung (Abb. 1). Hier scheint der Inhibitoreffekt von Fe-bindenden Proteinen auf das Bakterienwachstum von Bedeutung zu sein, da dieses Präparat eine vergleichsweise niedrige freie Eisenbindungskapazität aufweist. Der überhöhte Immunglobulin- und Transferringehalt von Schura zeigte keine positive Wirkung!

4.1.1.4 Interpretation der beobachteten Phänomene:

Ein bedeutender Punkt bei der Verschlechterung der Frischserumleistung nach Zufügen von Serumkonserven scheint die bei zwei Präparaten festgestellte antikomplementäre Wirkung zu sein. Sie nimmt parallel der Verschlechterung der Frischserumbakterizidie zu. Siehe Tabelle 7.

Serumkonserve	Unspezifischer Komplementverbrauch in %	Frischserumverschlechterung in %	
		SK mit 10% FS	SK mit 2,5% FS
Biseko	0	1	1,7
Schura	20	38	144
Seretin	14	11	125

Tab. 7: Frischserumverschlechterung nach 180 min in Abhängigkeit vom unspezifischen Komplementverbrauch der Serumkonserven (SK) bei Mischung mit Frischserum (FS)

Für die Bedeutung des Komplements spricht auch folgende Tatsache: Bei 2,5% Frischserumgehalt und einer Keimbelastung von $1o^4$ (Abb. 4) fällt das Ergebnis schlechter aus als bei 1o% Frischserumgehalt und einer Keimbelastung von $5x1o^6$ (Abb. 3), was einer 125mal stärkeren Belastung des Frischserumanteils entspricht. Hier scheint das zugeführte Frischserum noch ausreichend zu sein, die antikomplementären Wirkungen der Serumkonserven abzufangen.
Eine Abnahme des Komplementgehalts wird auch nach Ablauf der Zwischenfälle bei i.v.-Injektion von Standard-Gammaglobulin beobachtet. Man führt dies auf komplementaktive IgG-Aggregate zurück, die bei der Gammaglobulinfraktionierung als Artefakte auftreten (3). Christian beschreibt den Komplementverbrauch als abhängig vom IgG-Gehalt der Seren (6). Diese Abhängigkeit konnte in den vorliegenden Versuchen nicht beobachtet werden. Es ist zwar unwahrscheinlich, daß die Nebenwirkungen von i.v. verabreichtem Standardgammaglobulin nach Serumkonservengabe bisher nicht aufgefallen wären, wenn sie auf der von Barandun beschriebenen Aggregation beruhten. Andererseits liegen die Gammaglobuline in den Serumkonserven in einer Konzentration von 1-2%, bei den Standard-Gammaglobulinen 16%ig vor. 1%iges Standard-Immunglobulin soll gut vertragen werden.
Entfernte man nach Vorinkubation der Keime in Schura, dem Präparat mit der stärksten antikomplementären Wirkung bzw. in Biseko, dem Präparat ohne antikomplementäre Eigenschaften die nicht an den Keimen haftenden Antikörper durch Waschen aus dem Testsystem, war das Ergebnis für beide Serumkonserven identisch (Tab. 1): Eine negative Wirkung auf die Frischserumeigenschaften konnte nicht mehr stattfinden.

Die zugeführten Antikörper waren jedoch auch nicht in der Lage, die Frischserumbakterizidie zu fördern.

Die negativen Wirkungen der Serumkonserven waren stark vermindert bzw. aufgehoben, wenn man die Seren 1:1 mit Ca^{++}-Mg^{++}-haltiger Pufferlösung (Hanksche Lösung) versetzte. Eine Serumkonserve zeigte sogar bakterizidiefördernde Wirkung. Siehe Abbildung 15.

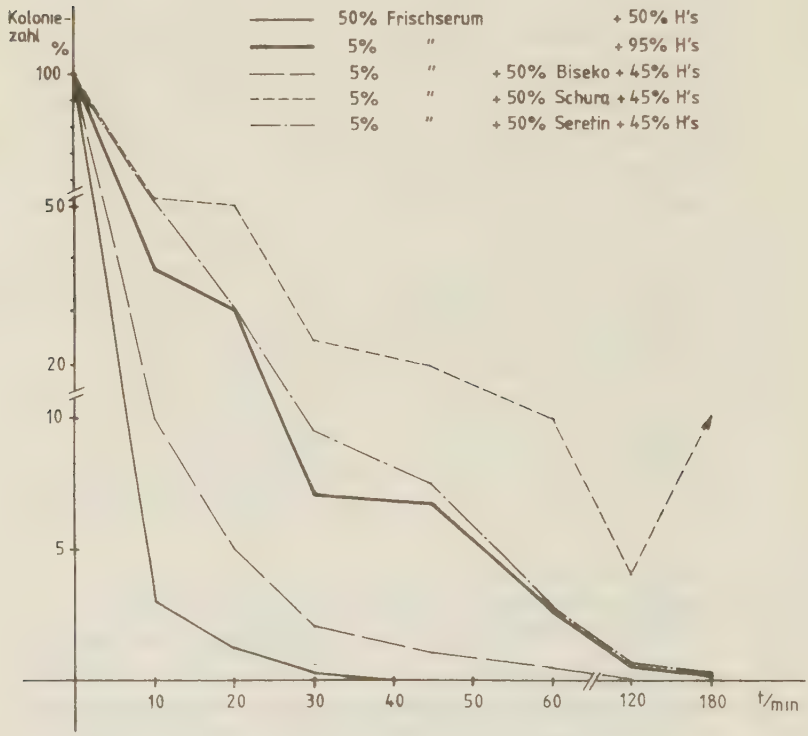

Abb. 15: E. coli in Serumkonserven versetzt mit Ca-Mg-haltiger Pufferlösung (Hank'sche Lösung, H's) 45% und mit Frischserum 5 %

Andererseits hatte keine Konserve eine positive, aber auch keine negative Wirkung, wenn E. coli in diesen Präparaten vorinkubiert und gewaschen war (Tab. 1). Hieraus kann man schließen, daß die Antikörper der Serumkonserve, die die Bakterizidie förderten, nicht allein für die Wirkung verantwortlich waren, sondern unter Umständen andere Bestandteile wie Transferrin oder aktiv gebliebene Komplementfraktionen, die nach Vorinkubation und Waschen im Versuch nicht mehr anwesend waren.
Wurden die Serumkonserven gegen Ca^{++}-Mg^{++}-haltige Pufferlösung dialysiert (3 Stunden), konnte die antikomplementäre Wirkung im Hämolysetest aufgehoben werden, woraus ersichtlich ist, daß nicht aggregierte Immunglobuline oder andere Serumbestandteile für die antikomplementäre Wirkung verantwortlich waren, sondern lediglich ein Mangel an Mg^{++}.
Ein Ca^{++}-Mangel ist nicht anzunehmen, da die Mischung von Frisch- bzw. Citratblut mit Serumkonserven gerinnt. Mg^{++} ist sowohl für den klassischen Weg der Komplementaktivierung als auch für den "alternate pathway" nötig.
Es bleibt die Frage offen, warum die Mischung aus bakteriostatisch wirksamen Serumkonserven und bakterizid wirksamen Frischserum eine rapide Keimvermehrung erlaubt, wenn ein Mangel an Mg^{++}-Ionen vorliegt.

4.1.2 Gammaglobuline:

4.1.2.1 Verhalten von E. coli in einer Mischung aus Frischserum und Gammaglobulinen:

Ähnlich den Ergebnissen bei den Serumkonserven brachte die Mischung von Frischserum und Gammaglobulinen keine Förderung der Frischserumleistung (Abb. 6). Die Bakterizidie von unverdünntem Frischserum wurde nicht annähernd erreicht. Die geringste Keimreduktion trat beim pepsingespaltenen Präparat

auf: Die nach Abspaltung des Fc-Teiles verbliebenen $F(ab)_2$-Fragmente vermögen Komplement auf klassischem Weg nicht zu aktivieren. Der "alternate pathway", der ihnen nach Sandberg et al (25) offensteht, wurde offensichtlich nicht beschritten.
Die nach initialer Keimreduktion bei allen Präparaten auftretende Vermehrung der Koloniezahl ist auf, auch im Frischserum vorhandene, Wuchsstoffe zurückzuführen.
Die fehlende Unterstützung der Serumbakterizidie durch Antikörper wurde bereits von Henkel (17) beobachtet.
Eine Verbesserung der Keimabtötung durch Zugabe von Mg^{++}, wie bei den Serumkonserven beobachtet, trat bei den Gammaglobulinen nicht auf.

4.1.2.2 Methode:

Die Versuche wurden mit einer Gammaglobulinkonzentration von 1g/1ooml durchgeführt, um dem physiologischen Immunglobulingehalt nahezukommen. Außerdem wird auch bei Infusion von 16%igem Gammaglobulin nach Bestimmungen von Schwander und Wegmann (26) nur eine mittlere Gammaglobulinkonzentration von 1,2 g/1ooml im Patientenserum erreicht, bei Agammaglobulinämie weitaus weniger ($\leqq$ o,3 g/1ooml).
Antikomplementäre Eigenschaften wurden nicht festgestellt, was die fehlende Wirkung der Mg^{++}-Zufuhr erklärt und eine Reduktion des Frischserumanteils auf 1% erlaubte. Diese sollte eine fördernde Wirkung der Gammaglobuline besser erkennen lassen. Deshalb wurde das Modell von stark verdünntem Frischserum und relativ großen Mengen der Präparate gewählt.
Außerdem bot sich dieses Mischungsverhältnis zur Imitation eines durch schwere Infekte erschöpften Serums an.

4.2 Blutbakterizidie:

4.2.1 Bisherige Untersuchungen über die Beeinflußbarkeit der Blutbakterizidie:

Die Berichte über die Förderung der Phagozytose und Bakterizidie der Granulozyten durch Opsonisation der korpuskulären Antigene in Frischserum sind widersprüchlich: Ein Teil der Autoren berichtet über eine Erhöhung der Phagozytose durch C3b (19, 2o, 38), wobei diese Versuche in Anwesenheit von Antikörpern durchgeführt wurden. Andere sehen die Bedeutung von C3b lediglich in einer Förderung der Immunadhärenz, eine Steigerung der Phagozytose wird verneint (22, 27). Immunadhärenz durch Komplement kann durch Substanzen, die die Bakterien-Phagozyten-Bindung fördern, imitiert werden (12), d. h. C3b ist lediglich für die Kontaktherstellung verantwortlich.

Die Funktion des IgG wird allgemein in Erleichterung von Phagozytose und Bakterizidie gesehen (12, 14, 38), die jedoch auch in Abwesenheit von spezifischen Antikörpern stattfinden können (29). Spezifische Antikörper scheinen die Bakterizidie mehr zu fördern als thermolabile Serumfaktoren (3o). Nach Lehrer and Cline (19) vermögen letztere die Phagozytose von Candida albicans zu steigern. Sie beschleunigen nicht, wie von Li and Mudd (2o) für S. aureus beschrieben, die Abtötung aufgenommener Candida-Zellen. Bei gleichzeitiger Anwesenheit von Komplement und Immunglobulin im Reaktionsgemisch wird deren Eigenwirkung potenziert (12, 13): Die für wirksame Opsonisation nötige Beladung der korpuskulären Antigene mit Immunglobulin im komplementfreien Milieu kann bei Anwesenheit von Komplement um zwei Zehnerpotenzen verringert werden (13).

Für schnelles Phagozytieren und Abtöten von S. aureus sind zusätzlich bivalente Kationen erforderlich: EDTA im phagozytierenden System reduziert Phagozytose und Bakterizidie durch Entzug von zweiwertigen Ionen, EDTA im Opsonisiermedium verhindert Bakterizidie (2o). Craig et al (8) begründen ihre gegensätzlichen Ergebnisse mit der unterschiedlichen Versuchsanordnung, die Phagozytose komplement- und damit Mg^{++}-unabhängig macht.

Für die Bedeutung der Kationen spricht auch die Untersuchung von Bianco et al (4): In Abwesenheit von Komplement und Mg^{++} blieb das "spreading" der Makrophagen aus.
Die unspezifische Reaktion des Staphylokokkenproteins A mit dem Fc-Teil des IgG wirkt nach Dossett et al (1o) phagozytosehemmend, nach van Oss und Mitarbeiter (36, 37) kann die Phagozytose gefördert werden.

4.2.2 Methode:

Den vorliegenden Versuchen lag eine Granulozyten-Keim-Relation von 1oo:1 zugrunde. Diese geringe Keimzahl wurde gewählt, um Agglutination der Mikroorganismen während der Versuchsdauer von 4 Std. zu vermeiden und um zu erreichen, daß pro Granulozyt nur ein Keim phagozytiert wird: In hypotonem Agar rupturieren die Granulozyten und ermöglichen den nicht abgetöteten Keimen Koloniebildung. Eine höhere Keimbelastung hätte die Zahl der Koloniebildner verfälscht. Mikroskopische Kontrollen zeigten, daß in den Versuchsansätzen nach dem Vorinkubieren keine Agglutination aufgetreten war, auch wenn die Keimzahl 1oox höher war.
Eine eventuell zu Zellverklumpung führende und damit phagozytosebehindernde Immunadhärenz an Erythrozyten und Thrombozyten (15) wurde ebenfalls nicht beobachtet.

Die lange Versuchsdauer schien nötig wegen der von Ax et al (1) beobachteten Abhängigkeit der Ergebnisse von der Inkubationszeit.

4.2.3 Verhalten von S. aureus in reinen Serumkonserven und reinen Gammaglobulinen:

Der verwendete S. aureus vermehrte sich, wie für grampositive Kokken bekannt, in reinem Frischserum, ebenso in den Serumkonserven (Abb. 7).
Drei Gammaglobuline verhinderten eine Vermehrung, das plasminverdaute Präparat erlaubte nach 12o min eine massive Keimzunahme (Abb. 1o). Ein Wirkungsunterschied konnte bei den bakteriostatisch wirksamen Präparaten nicht festgestellt werden. Nach den Untersuchungen von Wirsing und Mitarbeitern (39) war dies nicht zu erwarten: Die Autoren konnten keine Unterschiede hinsichtlich des quantitativen und qualitativen Gehalts an spezifischen Antikörpern feststellen.

4.2.4 Wirkung der Serumkonserven auf die Blutbakterizidie:

Die bakteriziden Eigenschaften des Blutes wurden durch Opsonisieren von S. aureus in reinen Serumkonserven nicht verbessert (Abb. 9), wobei die in Vorversuchen gemachte Beobachtung überrascht, daß die Granulozytenleistung bei Anwesenheit der Präparate im Testsystem schlechter war als nach Waschen der Keime. Deswegen mußte das natürliche Modell (Mischen aller Bestandteile) zugunsten von Voinkubation und Waschen der Keime aufgegeben werden.
Christie und Mitarbeiter (7) erklärten diese Behinderung der Bakterizidie, die in ihren Versuchen bei hohen IgG-Konzentrationen auftrat, mit Blockade der Fc-Rezeptoren durch beliebige Gammaglobuline.

Bei Opsonisierung in Anwesenheit von Frischserum als Komplementquelle (Abb. 8) fällt - im Gegensatz zu den Ergebnissen der Serumbakterizidie - das positive Ergebnis für die Schura-Serumkonserve auf, die einen vergleichsweise hohen Immunglobulingehalt aufweist. Offenbar befinden sich darin mehr Antikörper mit erhaltener Funktion als in den anderen Präparaten.

4.2.5 Wirkung der Gammaglobuline auf die Blutbakterizidie:

Die Opsonisierung von S. aureus in Gammaglobulinen führte zu keiner Verbesserung der bakteriziden Eigenschaften des Blutes (Abb. 13). Die bei einem Präparat beobachtete initial leicht verstärkte Bakterizidie überschreitet nicht die Schwankungsbreite der Methode.
Die fehlende bzw. verschlechternde Wirkung von gespaltenem Gammaglobulin ist bereits beschrieben worden (7, 13, 35). Eibl und Friers (13) sehen die Ursache in einer kompetetiven Hemmung durch die gespaltenen Fragmente. Tympner (35) beobachtete eine geringe Verbesserung der Phagozytose von Bäckerhefe (von 2,64 auf 3,o8 Hefepartikeln/Phagozyt) durch 5%iges propiolaktonbehandeltes Immunglobulin. Sie verringerte sich mit abnehmender Globulinkonzentration. Das pepsingespaltene Präparat zeigte keine Wirkung auf die Phagozytose. Fungizidie wurde nicht geprüft.
Lindquist et al (21) berichten von einer Verbesserung der Leukozytenleistung durch pepsingespaltenes Gammaglobulin bei 58% ihrer Probanden, gemessen an der verstärkten NBT-Reduktion der Granulozyten, eine indirekte Methode also, die auch durch Pinozytose der Gammaglobuline ausgelöst sein kann.
Von Phagozyten werden nur die Fc-Stücke von IgG1 und IgG3 erkannt (23). Das erklärt die mangelhafte Wirkung der enzymgespaltenen Präparate, die

vorwiegend aus intakten IgG2 und IgG4 bestehen (3, 28) und nur noch geringe Mengen intakte IgG1 und IgG3 enthalten.
Um die Eigenwirkung der zugeführten Antikörper von der Leukozytenleistung abzugrenzen, wurden die opsonisierten Keime parallel zu den Blutbakterizidieversuchen in o,9%igem NaCl suspendiert. Es ergab sich Bakteriostase, in einigen Fällen ein geringer Abfall der Keimkonzentration (Abb. 12, 14).
Christie et al (7) haben in ähnlichen Versuchen mit pepsinbehandeltem Gammaglobulin eine Keimreduktion auf 5o% beobachtet. Diesen Abfall führen die Autoren auf Agglutination zurück, die in den hier beschriebenen Versuchen jedoch nicht auftrat, da die verwendeten Konzentrationen zu niedrig waren.

Die nicht nachweisbare Wirkung von Komplement dürfte durch die wuchsfördernde Wirkung des Frischserumzusatzes verdeckt sein, der ab 1o-2o min Versuchsdauer den nicht phagozytierten Keimen rasche Teilung ermöglichte.
Bei allen sieben Präparaten wurde nach initialer Abnahme der Koloniebildner nach ca. 3 Std. ein mehr oder weniger starker Wiederanstieg festgestellt. Es scheint, daß an den vorinkubierten, gewaschenen Keimen haftende Antikörper als Nährsubstrat dienen, vielleicht auch die durch Hämolyse freigesetzten Proteine der Erythrozyten. Bei langer Inkubationsdauer läßt sich Hämolyse nach unseren Beobachtungen nicht vollständig vermeiden.
Erschwerend für die Beurteilung der Versuche ist die gleichzeitig stattfindende Abtötung und Vermehrung der Mikroorganismen. Ab einer Versuchsdauer von ≧3o min sind die gemessenen Keimzahlen als deren Resultante zu betrachten.

Insgesamt läßt sich sagen, daß die hohe Eigenleistung der Leukozyten gegen S. aureus nur teilweise und durch therapeutisch kaum realisierbare Mengen an Gammaglobulinen und Serumkonserven zu verbessern war. Entweder ist die Avidität der 7 i.v. applizierbaren Präparate zu gering, um eine Verbesserung von Phagozytose und Bakterizidie zu erreichen oder aber alle 7 Präparate haben stark an funktionsfähigen Immunglobulinen eingebüßt.

5 ZUSAMMENFASSUNG

Die Wirkung von 3 Serumkonserven und 4 Gammaglobulinen auf die Serum- bzw. auf die Blutbakterizidie wurde untersucht.

S. aureus vermehrte sich in reinem Frischserum und in den Serumkonserven, die Gammaglobuline verhinderten eine Keimteilung. Außer der Serumkonserve Schura (erhöhter Gammaglobulingehalt) vermochte selbst nach 15minütiger Vorinkubation kein Präparat die Bakterizidie der Granulozyten zu verbessern.

E. coli (ein serumsensibler Stamm) wurde in verschieden starkem Ausmaß von Serumkonserven und Gammaglobulinen gehemmt. Bei den Serumkonserven korrelierte die Bakteriostase mit der Eisenbindungskapazität.

Die Mischung aus Gammaglobulinen und Frischserum war nicht in der Lage, die Frischserumleistung gegen E. coli zu fördern.

Während die reinen Serumkonserven das Wachstum von E. coli verhinderten und reines Frischserum bakterizid wirkte, vermehrten sich die Keime in einer Mischung aus Frischserum und Serumkonserve in verschieden starkem Ausmaß.

Im Hämolysetest waren 2 von 3 Serumkonserven antikomplementär. Eine Ursache dafür und damit auch für die mangelnde Bakterizidieförderung scheint ein Mangel an 2-wertigen Ionen (Mg^{++}) zu sein (Citratgehalt). Bei Zugabe von Ca^{++} und Mg^{++} förderte die Serumkonserve Biseko die Bakterizidie des Frischserums (5%) gegen E. coli.

Therapeutisch kaum erreichbare Mengen von Gammaglobulinen und Serumkonserven reichten mit je einer Ausnahme nicht aus, die Bakterizidie von

stark verdünntem Frischserum bzw. Blut zu verbessern. Ob dafür eine geringe Avidität oder mangelnde Qualität und/oder Quantität nativer Antikörper verantwortlich sind, bleibt offen.

LITERATURVERZEICHNIS

1 Ax, W., Kanzy, E.-J., Goronzi, B., Seiler, F. R. (Forschungslaboratorien der Behringwerke, Marburg): Beeinflussung von in vitro Phagozytose und in vivo Bakterienelimination durch Immunserum, IgG und den verschiedenen daraus hergestellten IgG-Fragmenten Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin 84 (1978), 1325

2 Barandun, S., Skvaril, F., Morell, A.: Prophylaxis and treatment of deseases by means of immunoglobulins
Monogr. Allergy 9 (1975), 39 - 6o

3 Barandun, S., Skvaril, F., Morell, A.: Prophylaxe und Therapie mit Gammaglobulin
Schweiz. med. Wschr. 1o6 (1976), 533 - 542

4 Bianco, C., Eden, A., Cohn, Z. A.: Complement and macrophage activation
J. Immunol. 116 (1976), 1728

5 Bläker, F., Hellwege, H. H., Mai, K.: Plasmaelimination intravenös verträglicher menschlicher Immunglobuline bei Patienten mit humoralen Immundefekten
Dtsch. med. Wschr. 97 (1972), 1151 - 1156

6 Christian, Ch. L.: Studies of aggregated gammaglobulin
J. Immunol. 84 (196o), 112 - 116

7 Christie, K. E., Solberg, C. O., Larsen, B., Grov, A., Tonder, O.: Influence of IgG, $F(ab')_2$ and IgM on the phagocytic and bactericidal activities of human neutrophil granulocytes
Acta path. micrbiol. scand. Sect. C, 84 (1976) 119 - 123

8 Craig, Ch. P., Suter, E.: Extracellular factors influencing staphylocidal capacity of human polymorphonuclear leukocytes
J. Immunol. 97 (1966), 287 - 296

9 Cremer, N. E., Riggs, J. L., Lenette, E. H.: Neutralization kinetics of western equine encephalitis by antibody fragments
Immunochemistry 12 (1975), 597 - 6o1

1o Dossett, J. H., Kronvall, G., Williams, R. C., JR, Quie, P. G.: Antiphagocytic effects of staphylococcal protein A
J. Immunol. 1o3 (1969), 14o5 - 141o

11 Duswald, K. H., Müller, K., Seifert, J., Ring, J.: Wirksamkeit von i.v. Gammaglobulin gegen bakterielle Infektionen chirurgischer Patienten
Münch. med. Wschr. 122 (198o), 832 - 836

12 Ehlenberger, A. G., Nussenzweig, V.: The role of membrane receptors for C3b and C3d in phagocytosis
J. Exp. Med. 145 (1977), 357 - 371

13 Eibl, M., Friers, G.: Hemmung der Opsonisierung von E. coli durch enzymatisch gespaltene Gammaglobuline
Wien. klin. Wschr. 9o (1978), 717 - 721

14 Goldman, J. N., Ruddy, S., Austen, K. F., Feingold, D. S.: The serumbactericidal reaction. III. Antibody and complement requirements for killing a rough E. coli
J. Immunol. 1o2 (1969), 1379 - 1387

15 Hadding, U., Bitter-Suermann, D.: Das Komplementsystem und seine Funktionen
Dtsch. Ärzteblatt 71, I (1974), 932 - 938

16 Henkel, W.: Serumresistenz und "Nephropathogenität" antigenetisch definierter Stämme von E. coli. I. Ermittlung und Standardisierung der Serumempfindlichkeit
Z. med. Mikrobiol. u. Immunol. 156 (197o), 44 - 59

17 Henkel, W.: Serumresistenz und "Nephropathogenität" antigenetisch definierter Stämme von E. coli. II. Verhalten unterschiedlich serumresistenter Keime in vitro
Z. med. Mikrobiol. u. Immunol. 156 (1971), 284 - 296

18 Knaepler, D., Cohen, P.: Effect of fragmentation of tetanus-immunoglobulin (human) on neutralization of tetanus toxin
Vox. sang. 32 (1977), 159 - 164

19 Lehrer, R. I., Cline, M. J.: Interaction of Candida albicans with Human Leukocytes and Serum
J. Bacteriol. 93 (1969), 996 - 1oo4

2o Li, I. W., Mudd, S.: The heatlabile serum factor associated with intracellular killing of Staphylococcus aureus
J. Immunol. 94 (1965), 852 - 857

21 Lindquist, L., Jarstrand, C., Lundbergh, P.:
Funktion der Granulozyten nach Gabe von pepsin-behandeltem humanen Immunglobulin
Infection 6 (1978), 248

22 Mantovani, B., Rabinovitch, M., Nussenzweig, V.:
Phagocytosis of immune complexes by macrophages
J. Exp. Med. 135 (1972), 78o - 792

23 Morell, A., Skvaril, F., Barandun, S.:
IgG-Subklassen der menschlichen Immunglobuline
S. Karger, Basel (1975)

24 Ourth, D.: Neutralization of diphteria toxin by human immunoglobulin classes and subunits
Immunochemistry 11 (1975), 223 - 225

25 Sandberg, A. L., Oliveira, B., Osler, A.:
Two complement interaction sites in guinea pig immunoglobulins
J. Immunol. 1o6 (1971), 282

26 Schwander, D., Wegmann, A.: Substitutive Therapie durch intravenöse Infusionen von Standard-Gamma-globulinen bei septischen Zuständen
Schweiz. med. Wschr. 1o3 (1973), 1184 - 1188

27 Scribner, D. J., Fahrney, D.: Neutrophil receptors for IgG and complement: Their roles in the attachment and ingestion phases of phagocytosis
J. Immunol. 116 (1976), 892 - 897

28 Skvaril, F., Theilkäs, L., Probst, M., Morell, A., Barandun, S.: IgG subclass composition and immunochemical characteristics of plasmintreated human γ-globulin
Vox. Sang. 3o (1976), 334 - 348

29 Solberg, C. O., Hellum, K. B.: Influence of serum on the bactericidal activity of neutrophil granulocytes
Acta path. microbiol. scand. Section B, 81 (1973), 621 - 626

3o Solberg, C. O., Christie, K. E., Larsen, B., Tonder, O.: Influence of antibodies and thermolabile serum factors on the bactericidal activity of human neutrophil granulocytes
Acta path. microbiol. scand. Section C, 84 (1976) 112 - 118

31 Spiess, H. (Hrsg): Immunglobuline in Prophylaxe und Therapie
Deutsches Grünes Kreuz, Marburg (1977)

32 Stephan, W.: Die Stabilität von α_1-Antitrypsin in der Serumkonserve
Biotest-Mitteilungen Heft 31 (1973)

33 Stiehm, E. R.: Pediatrics for the clinician. Standard and special human immune serum globulins as therapeutic agents
Pediatrics 63 (1979), 3o1 - 319

34 Tata, P. S., Werner, E.: Tierexperimentielle Untersuchungen zur Frage des passiven Schutzes durch intravenöse Immunglobulinpräparate
Res. exp. Med. 164 (1974), 175

35 Tympner, K.-D., Klose, P. K., Janka, G., Liegel, D.: Einfluß intravenös verträglicher Immunglobuline auf die Phagozytoseleistung der Granulozyten in vitro
Münch. med. Wschr. 12o (1978), 251 - 252

36 van Oss, C. J., Stinson, M. W.: Immunoglobulins as specific opsonins. I. The influence of polyclonal and monoclonal immunoglobulins on in vitro phagocytosis of latex particles and staphylococci by human neutrophils
J. Reticuloendothel. Soc. 8 (197o), 397 - 4o6

37 van Oss, C. J., Woeppel, M. S., Marquart, S. E.: Immunoglobulins as specific opsonins. II. The opsonizing power of fragments of polyclonal and monoclonal immunoglobulin G.
J. Reticuloendothel. Soc. 13 (1973), 221 - 23o

38 Wellek, B., Hahn, H. H., Opferkuch, W.: Evidence for macrophage C3d-receptor active in phagocytosis
J. Immunol. 114 (1975), 1643 - 1645

39 Wirsing, C. H., Finger, H., Jansen, P., Trobisch, H.: Gehalt an spezifischen Antikörpern in handelsüblichen intravenös applizierbaren Gammaglobulinpräparaten
Blut 36 (1978), 211 - 216

L E B E N S L A U F

Am 26. März 1954 wurde ich, Heidi Kastner-Geier in Kelheim geboren.
Nach dem Besuch der Volksschule in Weltenburg trat ich 1965 in das Edith-Stein-Gymnasium, Niederviehbach (ab 1967 in München) ein, wo ich am 22. Juni 1974 das Abitur ablegte.
Nach einem Semester Mathematik- und Physikstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität München immatrikulierte ich mich im Sommersemester 1975 an der Medizinischen Fakultät. Hier legte ich im März 1977 die Ärztliche Vorprüfung, im März 1978 den ersten Abschnitt, im März 198o den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung ab. Im Mai 1981 bestand ich den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.
Im November 1979 habe ich geheiratet.